

Т.В. Черномаз,
аспірант
(Житомирський педуніверситет)

АКТИВНІСТЬ ВІЙОК МИГОТЛИВОГО ЕПІТЕЛІЮ ЗЯБЕР І НОГИ *UNIO CONUS* (IN VITRO) ЯК ТЕСТ-ФУНКЦІЯ ПРИ ЕКОЛОГО-ФІЗІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ

Досліджено активність війок переживаючих клітин миготливого епітелію зябер і ноги Unio conus у нормі. Розглянуто вплив фізіологічного статусу, зараженості паразитами, сезонності та температури на швидкість биття війок миготливого епітелію та тривалість їх роботи.

Перлівниця *Unio conus* – найпоширеніший в Україні вид родини Unionidae. Для цих молюсків важливою є діяльність гідрокінетичного апарату, який забезпечує їх дихання, живлення, виділення та розмноження. Провідна роль у здійсненні руху води в мантийній порожнині належить миготливому епітелію зябер. Робота війок переживаючих клітин миготливого епітелію зябер і ноги може бути обрана як тест-функція, котра є досить зручною для використання її в еколого-фізіологічних дослідженнях. Такі дослідження особливо актуальні в наш час, коли постійно зростає забруднення навколишнього середовища, в тому числі і його "теплове забруднення".

Матеріал і методика: 186 екз. *U. conus*, зібраних вручну із річок Тетерів (Житомир, села Тетерівка та Перлівка), Гуйва (села Гуйва та Пряжево), Коденка (Пряжево), Лісова (Бондарці), Уж (Коростень) з червня 2000 р. по травень 2001 р. Молюсків транспортували в полотняному мішечку, вставленому у пакет із поліетилену (останній не зав'язували). Доставлених у лабораторію тварин одразу піддавали камеральним дослідженням. Для цього гідробіонтів серіями по 5-10 екз. на 1-2 доби вкладали до скляних посудин (6 л), які заповнювали дехлорованою відстоюванням (1 доба) водопровідною водою. Потім у молюсків з однієї сторони тіла перерізували замикальні м'язи і розкривали стулки черепашки. Роботу миготливого епітелію вивчали за методикою Веселова [1] на шматочках (1-1,5 см), вирізаних із вільного краю зябер та переднього краю ноги. Їх уміщали в годинникові скельця з розчином Рінгера для холоднокровних тварин, розведеному у 6 разів, як це рекомендує робити Джамусова [2;3;4]. Підраховували кількість ударів, що здійснюються фронтальними війками миготливого епітелію зябер за одиницю часу (1 хв), за допомогою мікроскопу БІОЛАМ Р-15 (×135) у затіненому полі зору (діафрагмування освітлювача) та встановлювали час повного пригнічення активності війок за нормальних умов (температура 13-18°C). Крім того, визначали теплостійкість миготливого епітелію зябер і ноги. За показник клітинної (тканинної) теплостійкості обрано час збереження (за певної температури) активності війками переживаючих клітин миготливого епітелію [3]. Цифрові результати дослідів оброблено методами варіаційної статистики за Лакінієм [5].

Результати та обговорення. При температурі середовища 13-18°C швидкість биття війок миготливого епітелію зябер і ноги *U. conus* становить $317,3 \pm 0,8$ і $319,2 \pm 0,9$ уд./хв. відповідно, а тривалість їх функціонування – $20311,6 \pm 864,1$ і $6040,6 \pm 92,8$ хв, тобто активність війок миготливого зябрового епітелію більша за активність війок епітелію ноги у 3,4 рази.

При дослідженні цих показників ми врахували можливість їх зміни залежно від фізіологічного статусу молюсків, зараженості їх паразитами, від сезону року та ін. З'ясовано, що у *U. conus* статистично ймовірні відмінності між самцями і самками не простежуються ні за тривалістю роботи війок миготливого епітелію зябер і ноги, ні за швидкістю їх биття.

В мантийній порожнині цих молюсків нами виявлено кліщів роду *Unionicola*. Розташовані вони на мантиї, зовнішніх та внутрішніх півз'ябрах, але найчастіше зустрічаються між півз'ябрами. Інколи кліщі заповзають у комірочки між філаментами зябер і тримаються там, висовуючи назовні гіпостом. Інтенсивність заселення ними досліджуваного виду незначна – від 1 до 8 екз. Невелика також і екстенсивність заселення ними хазяїна – 2,7%. Через наявність у з'ябрах цих епіюків тривалість роботи їх миготливого епітелію скорочується на 7,6, а ноги – на 2,6%.

У перикардії та нирці перлівницевого паразитує марита гельмінт у *Aspidogaster conchicola*, розвиток якого відбувається в організмі одного хазяїна. Екстенсивність інвазії ним *U. conus* становить 50,5%, причому в період із жовтня по січень вона значно менша (15,1%), порівняно з березнем-травнем (81%). Перикардій заселений гельмінтом частіше (47,3%), ніж нирка (8,6%), і інтенсивність його інвазії вища (12 екз. у перикардії проти 3 екз. в нирці). З'ясовано, що *A. conchicola* не впливає на роботу миготливого епітелію досліджуваних органів.

Абсолютні значення швидкості биття війок миготливого епітелію молоді (1-3-річні особини) більші за значення цих показників у дорослих особин (на 7-10 уд./хв). Це свідчить про те, що молодь є ефективнішим фільтратором: об'єм профільтрованої нею води більший (в перерахунку на 1 г сирої маси) [6;7] приблизно в 3 рази [8].

Виявлено сезонні зміни тривалості функціонування миготливого епітелію у *U. conus*. Найнижча тривалість роботи миготливого епітелію зябер припадає на червень, а найвища – на березень, причому остання у 12,2 рази більша за червневу тривалість (рис. 1). Максимальне значення тривалості активності миготливого епітелію ноги припадає на грудень. Цей показник має обмеженіший розкид значень, через що зростає різниця між ним і показником тривалості роботи зябрового епітелію з листопада до березня (у березні різниця становить $24041,1$ хв, або 16 діб).

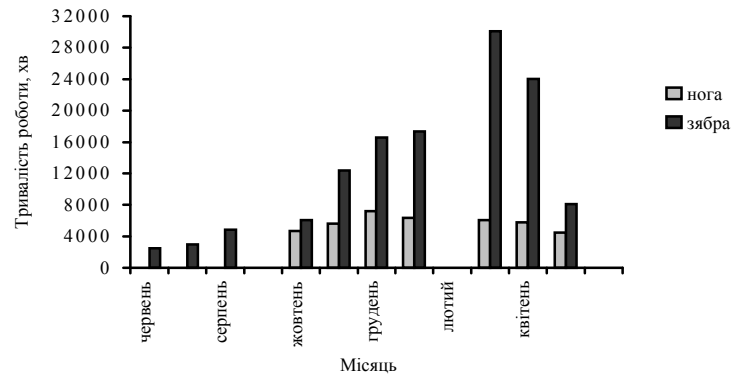


Рис. 1. Сезонні зміни тривалості функціонування війок миготливого епітелію зябер і ноги.

Загальновідомо, що температурний чинник опосередковано впливає на активацію процесів деструкції органічної речовини, в результаті чого у водне середовище виділяються різні токсичні продукти. При цьому підвищення температури середовища знижує ступінь насичення води киснем, одночасно посилюючи токсичну дію поллютантів на гідробіонтів. Через це важливим є дослідження впливу температурного чинника на перебіг усіх, без виключення, процесів життєдіяльності гідробіонтів, у тому числі й на активність війок миготливого епітелію у перлівницеви. Особливо актуальним це стає останнім часом, коли безперервно зростає забруднення водного середовища різними за природою та концентрацією поллютантами. Однією із найнебезпечніших форм забруднення водного середовища є "теплове забруднення". Воно є наслідком як глобального потепління, так і інтенсивного розвитку теплової і атомної енергетики в Україні. Останній зумовив появу на її теренах унікальних водоймищ-охладжувачів зі специфічним температурним режимом. Загальна площа таких водоймищ в Україні становить понад 10 тис га. Підвищення температури води (в межах теплового преферендуму) викликає інтенсивний ріст гідробіонтів, прискорює їх статеве дозрівання, підвищує їх кормову активність і засвоюваність їжі, а також стимулює перебіг обмінних процесів в їх організмі. Влітку, однак, термічний режим таких водойм перевищує межі оптимуму для цих тварин, оскільки скиди підігрітих вод викликають прогрівання водного середовища до температури 33°C [9]. За таких умов максимально стійкими до дії високої температури є особини середніх розмірів, які здатні витримувати підвищення температури води до 32°C протягом 4-5 діб [10]. Взагалі температура 30-34°C є верхнім температурним песимумом, який викликає розлагодження діяльності їх фільтраційного апарату, і, перш за все, порушення функцій миготливого епітелію. Встановлено, що у перлівницеви температура, котра викликає тепловий некроз клітин миготливого епітелію, значно вища від температури, яка при тому ж терміні дії призводить до термонекрозу організму [11]. Тобто, теплостійкість ізольованих шматочків зябер і ноги вища за теплостійкість цілого організму [12]. Для *U. conus* теплостійкість зябер при 38°C становить 130,3±3,7, ноги – 143,3±4,6 хв. При зниженні температури до 9°C вона зростає як для миготливого епітелію зябер, так і для епітелію ноги, а при 4°C тривалість роботи миготливого епітелію ноги зростає на 85,8, тоді як зябер – зменшується на 21,4%. Імовірно тривалість функціонування зябрового епітелію добирає максимального значення при 9°C, а за умов подальшого зниження температури стійкість епітелію зябер прогресивно зменшується (в межах нижнього температурного песимуму). Тенденція до зниження стійкості миготливого епітелію зябер і ноги при зростанні температури добре простежується на напівлогарифмічному графіку (рис. 2).

Зміна швидкості биття війок миготливого епітелію зябер і ноги під дією температурного чинника є одноплановою. У температурному діапазоні від 4 до 18°C швидкість більш-менш постійна. Це підтверджується спостереженнями інших дослідників [13], які помітили, що у холодостійких форм двостулкових молюсків війки миготливого епітелію залишаються активними при зниженні температури середовища майже до 0°C. Отже, 0°C є нижньою критичною точкою для функціонування миготливого епітелію *U. conus*. При підвищенні температури від 18 до 38°C швидкість биття війок миготливого епітелію зростає. Із збільшенням швидкості руху війок зростає і об'єм профільтрованої молюском води [14]. Але при температурах, близьких до 30°C, процес фільтрації води уніонідами стає нерівномірним: повне навантаження чергується з повним припиненням фільтрації води [15]. Це пов'язано з порушеннями нормальної активності війок миготливого епітелію [16], можливо, обумовленими тим, що верхній температурний поріг фізіологічної активності миготливого епітелію у цих тварин знаходиться при температурах, близьких до 33°C [17]. Нашими дослідженнями встановлено, що при збільшенні температури води від 18 до 32°C зростання швидкості биття війок миготливого епітелію відбувається рівномірно, а від 32 до 38°C – сповільнюється, тобто починається пригнічення активності війок. Для миготливого епітелію зябер *U. tumidus* [18] шкідливими виявляються температури, починаючи з 38°C. Отже, зоною верхнього температурного песимуму є температури 38-40°C, а зона температурного преферендуму для досліджуваної тканини лежить в межах 4-38°C. Якщо врахувати те, що навіть за температури 40°C тривалість функціонування війок миготливого епітелію *U. tumidus* (виду, спорідненого з *U. conus*) становить 90 хв [18], то верхня критична точка для роботи війок лежить в межах 40-42°C.

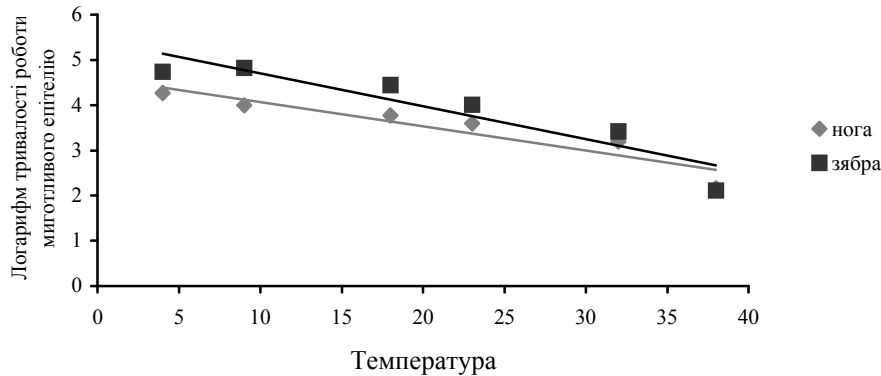


Рис. 2. Залежність тривалості роботи війок миготливого епітелію від температури.

Для порівняння змін у швидкостях біологічних процесів зі зміною температури середовища широко використовується коефіцієнт Вант-Гоффа. Він показує, у скільки разів прискорюється реакція при зростанні температури на 10°C. Однак для біологічних явищ правило Вант-Гоффа не завжди справедливе, бо одна і та ж температура по-різному впливає на різні системи органів. Неоднакове значення Q_{10} для різних систем органів в межах дії однакових температур обумовлене тим, що біологічні процеси базуються на серії хімічних і фізичних явищ, кожне з яких характеризується своїм температурним коефіцієнтом [19]. Порівняння особливостей функціонування війок миготливого епітелію з іншими біологічними процесами в залежності від температури середовища представлено на рис.3.

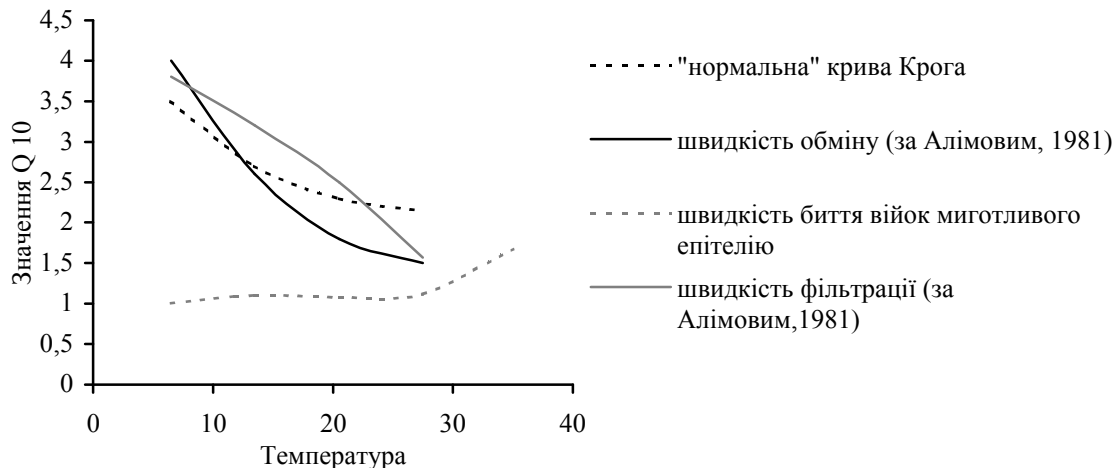


Рис. 3. Залежність коефіцієнту Вант-Гоффа від температури.

1. Веселов Е. А. Биологические тесты при санитарно-биологическом изучении водоёмов // Жизнь пресных вод СССР. – Т. 4, кн. 2. – М. –Л.: Изд-во АН СССР, 1959. – С. 7-37.
2. Джамусова Т.А. Теплоустойчивость мускулатуры некоторых пресноводных моллюсков // Вопросы цитологии и протистол. – М. –Л., 1960. – С. 100-106.
3. Методы изучения двустворчатых моллюсков / Под ред. Г. Л. Шкорбатова и Я. И. Старобогатова. – Л.: Зоологический институт АН СССР, 1990. – 208 с.
4. Шляхтер Т.А. Реакция клеток мерцательного эпителия перловицы на действие ингибиторов ферментов // Цитология. – 1965. – Т. 7. – №2. – С. 212-217.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. шк., 1973. – 343 с.
6. Кондратьев Г.П. Влияние температуры воды на длительность фильтрационной активности у некоторых пресноводных ракушек // Видовой состав, экол. и продуктивн. гидробионтов Волгоградск. водохранилища. – Саратов: Саратов. ун-т, 1969. – С. 31-36.
7. Sreedhar K. Shiny, Radhakrishnan C.K. Rate of water filtration in the mussel *Musculista senhousia* (Benson) from Cochin backwaters, west-coast of India // Indian. J. Mar. Sci. – 1994. N3. – P. 176-177.
8. Золотарёва В. И., Махонина А. В., Дыга А. К. О фильтрационной способности *Dreissena bugensis* Andr // Моллюски. Их система, эволюция и роль в природе. Авторефераты докладов. Сб. 5. – Л.: Наука, 1975. – С. 81-82.
9. Евтушенко Н. Ю. Проблемы и перспективы развития ихтиологических исследований в Украине // Гидроб. ж. –1999. – Т.35. – №1. – С. 3-22.

10. Афанасьев С. А., Протасов А. А., Здановский Б., Туновский Я. Особенности распределения двустворчатых моллюсков в системе подогретых Конинских озёр (республика Польша) // Гидроб. ж. – 1996. – Т. 32. – №3. – С. 33-44.
11. Стадниченко А.П. Перлівниці. Кулькові Фауна України: В 40-а т. / – К.: Наук. думка, 1984. – Т. 29. М Вип. 9 –384 с.
12. Senius K.E.O. Thermal resistance of the ciliary activity in the gills of the fresh water mussel *Anodonta anatina* // J. Therm. Biol. – 1977. – N4. – P. 233-238.
13. Шлипер К., Тиде Г. Приспособление морских животных к абиотическим факторам среды // Биология моря. – № 6. – 1975. – С. 3-25.
14. Yamamoto Ken-ichi, Tamura Ikuo, Tochino Motohide. Влияние температуры на объём профильтрованной воды и движение ресничек жабр японского двустворчатого моллюска *Scapharca broughtonii* // Suisan daigakko kenkyu nokoku=J. Shimonoseki Univ. Fish. – 1996. – № 2. – P. 95-101.
15. Кондратьев Г.П. О масштабах фильтрационной и минерализационной работы некоторых двустворок в Волгоградском водохранилище // Вопросы физиологии и популяционной экологии. – Вып. 1. – Саратов, 1970. – С. 38-40.
16. Lagerspetz K.Y.H., Terri R. Transmitter substances and temperature acclimation in *Anodonta* (Pelecypoda) // Ann. Zool. Fenn. – 1968. – Vol. 5. – N 4. – P. 396-400.
17. Алимов А. Ф. Функциональная экология пресноводных двустворчатых моллюсков. – Л.: Наука, 1981. – 248 с.
18. Гинзбург Э. Л., Лабас Ю. А. Воздействие повышенной температуры на латеральные клетки мерцательного эпителия жабер перловицы. I. Изменение частоты биения ресничек // Цитология. – 1973. – Т. 15. – №7. – С. 935-938.
19. Bělehradek J. Temperature coefficients in biology // Biol. Rev. –1930. –5. – N 1. – P. 30-58.

Матеріал надійшов до редакції 8.08.01.

Черномаз Т.В. Активность ресничек мерцательного эпителия жабер и ноги *Unio conus* (in vitro) как тест-функция при эколого-физиологических исследованиях.

*Исследована активность ресничек переживающих клеток мерцательного эпителия жабер и ноги *Unio conus* в норме. Изучено влияние физиологического статуса, зараженности паразитами, сезонности и температуры на скорость биения ресничек мерцательного эпителия и продолжительность их работы.*

Chernomaz T.V. Ciliary activity of the glimmeral epithelium of gill and leg *Unio conus* (in vitro) as test-function at ecologo-physiological investigations.

*Ciliary activity of outliving cells of the glimmeral epithelium of gill and leg of *Unio conus* in a norm was investigated. The author determined the influence of physiological status, invaded by parasites, season and temperature on the rate and duration of ciliary beating of glimmeral epithelium.*